Lane Medical Library

AUS DER 1. MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTSKLINIK
DIREKTOR: GEH. MED.-RAT PROF. DR. W. HIS

AKTIVE EISENVERBINDUNGEN IN DER KULTUR HÄMOPHILER BAKTERIEN

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN

VON

HARRY FISCHGOLD

AUS BERLIN

Tag der Promotion: 3. Aug. 1929

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER IN BERLIN. 1929

152

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. *v. Eicken*

Referent: Priv.-Doz. Dr. *H. Petow*

Korreferent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. *W. His*

Sonderdruck aus: „Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin"
Bd. 66, Heft 3/4.

Zur Charakterisierung „aktiver" Eisenverbindungen haben *Baudisch* und *Welo* neben dem chemischen und physikalischen Verhalten die biologische Wirksamkeit herangezogen. Sie stützten sich dabei auf die Untersuchungen von *Webster* und von *Webster* und *Baudisch* über den Einfluß dieser Stoffe auf das Wachstum gewisser Bakterien; die genannten Autoren fanden nämlich, daß „aktive" Eisenverbindungen in der Kultur des Bact. lepisepticum und der obligat hämophilen Bakterien (Bac. influenzae *[Pfeiffer]* und Bac. haemoglobinophilus canis *[Friedberger]*) gewisse blutähnliche Wirkungen ausübten.

Das Wachstum des Bac. influenzae *(Pfeiffer)*, des Hauptvertreters der hämophilen Gruppe, ist an die Gegenwart zweier akzessorischer Substanzen gebunden, einer thermolabilen (V-Faktor nach *Thjötta* und *Avery*) und einer thermostabilen (X-Faktor). Der *Friedberger*sche Bacillus braucht nur den X-Stoff. Beide Substanzen sind in den roten Blutkörperchen enthalten.

Der V-Stoff wird bei der Influenzakultur in viel höherer Konzentration gebraucht als der X-Stoff, und so erklärt es sich, daß ganz geringe Blutmengen zwar den in stärksten Verdünnungen wirksamen X-Stoff liefern können, hinsichtlich der V-Wirkung jedoch versagen. Der V-Faktor ist enthalten im unveränderten Hämoglobin, im Oxyhämoglobin, Methämoglobin und CO-Hämoglobin, dagegen nicht im krystallisierten Hämoglobin, Hämatin und Hämin *(Olsen)*; ferner in vielen tierischen Geweben (*Agulhon* und *Legroux*, *Legroux* und *Mesnard* verwandten Nieren-, Herz- und Leberbrei), in fast allen Pflanzen *(Davis, Thjötta)* und in zahlreichen Bakterienkulturen.

Der X-Faktor ist auch im Hämoglobin enthalten und noch in einer Verdünnung von 1 : 2 000 000 nachweisbar und wirksam. X- und V-Stoff sind ferner gemeinsam enthalten in den eisen- und globinhaltigen Hämoglobinabkömmlingen Oxyhämoglobin, Methämoglobin und CO-Hämoglobin; X-Stoff allein findet sich in den globinfreien, aber eisenhaltigen Blutderivaten Hämatin und Hämin, während die eisenfreien Substanzen Hämatoporphyrin, Hämocyanin, Bilirubin, Pyrrol und Chlorophyll keine X-Wirkung zeigen *(Olsen)*. Danach scheint der X-Faktor an einen eisenhaltigen Komplex gebunden zu sein. Der X-Stoff ist aber auch in gewissen Pflanzen (Kartoffeln und Bananen) gefunden worden *(Thjötta* und *Avery, Knorr,*

Knorr und *Gehlen, Fildes, Kollath).* Bemerkenswert ist dabei, daß *Kollath* in der Banane Eisen nachweisen konnte. Über die Natur des X-Faktors ist man ebenso im unklaren wie über die des V-Faktors. Seine Wirksamkeit in großer Verdünnung spricht für eine katalytische Wirkung. *Olsen* wies darauf hin, daß die wachstumsfördernden Eigenschaften der Blutderivate mit der Benzidinreaktion parallel verlaufen, und *Fildes* nimmt an, daß die X-Wirkung eine Peroxydasewirkung ist; aber auch mit benzidinnegativen Stoffen kann X-Wirkung erzielt werden *(Thjötta* und *Avery).* Die *Olsen*sche Beobachtung über die Beziehung von X-Wirkung und Benzidinaktivität läßt sich also durchaus nicht verallgemeinern und bleibt zunächst auf die Blutderivate beschränkt.

Kopp ist es übrigens gelungen, den Influenzabacillus unter anaeroben Bedingungen *X-frei* zu züchten; alle Untersuchungen über X-Stoff können demnach nur unter aeroben Bedingungen durchgeführt werden.

Gewisse Bakterien haben die Fähigkeit, V-Stoff oder beide Stoffe aus unwirksamen Substanzen aufzubauen. In Symbiose mit solchen Bakterien können hämophile Keime, die diese Fähigkeit nicht haben, gedeihen. *Graßberger* beobachtete auf Agarplatten, die nur so wenig Blut enthielten, daß Influenzabacillen nur in kleinen Kolonien gediehen, ein sehr verstärktes Wachstum dieser Keime in reinen Kolonien in der Umgebung von Kolonien der verschiedensten Bakterien, die er Ammen nannte. *Graßberger* bezeichnete dieses Phänomen als „Riesenwachstum". Voraussetzung für das Zustandekommen dieser Erscheinung war in allen Fällen der Gehalt des Nährbodens an geringen Mengen von Blut oder Blutabkömmlingen, deren Wirksamkeit jedoch auch durch längeres Kochen nicht zerstört werden konnte.

Neisser sah eine ähnliche Symbiose: auf völlig blutfreiem Nährboden wuchsen Influenzabacillen in Mischkolonien mit anderen Bakterien (Ammen). Reinkulturen von Influenzabacillen aber beobachtete *Neisser* auch bei Gegenwart von Ammen auf blutfreiem Nährboden nicht. *Kollath* unterschied das *Graßberger*sche „Riesenwachstum" von dem *Neisser*schen „Ammenwachstum". Er bezeichnete die Bakterien, die das „Ammenwachstum" ermöglichen, als Ammen erster Ordnung, die Ammen beim „Riesenwachstum" als Ammen zweiter Ordnung und deutete die Art ihrer Wirkung dahin, daß die Ammen zweiter Ordnung nur V-Stoff, die Ammen erster Ordnung sowohl V-Stoff als auch aus geeigneten Eisensalzen X-Stoff aufbauen können.

Aus diesen Forschungsergebnissen geht hervor, daß für das Wachstum der hämophilen Bakterien die akzessorischen Substanzen durch andere Lebewesen vorgebildet im Nährboden anwesend sein müssen. Es ist bisher nicht gelungen, weder den V- noch den X-Stoff durch bekannte einfache chemisch wohl definierte Substanzen zu ersetzen. In der Annahme, daß der X-Stoff an das Eisen gebunden ist, wurde oft der Versuch gemacht, chemisch bekannte anorganische oder organische Eisenverbindungen als X-Stoff zu benutzen *(Pfeiffer, Davis, Fildes, Thjötta* und *Avery* u. a.). Alle diese Versuche sind bisher vergeblich gewesen.

Erst die Versuche von *Baudisch* und *Welo* sowie *Webster* und *Baudisch* hatten in dieser Hinsicht ein positives Resultat. Sie sind zu dem Ergebnis gekommen, daß gewisse Eisenverbindungen, die sie „aktiv" nennen, als X-Stoff fungieren können, und somit in dieser Beziehung wie auch in anderer Ähnlichkeit mit dem Hämoglobin zeigen. *Baudisch* und seine Mitarbeiter benutzten zu diesem Zwecke das Natriumpentacyanoaquoferroat (Aquosalz) und Eisenoxyde, die durch ihre chemische und physikalische „Aktivität" sich von anderen unterscheiden. In neun Passagen konnten sie den Influenzabacillus in einem Nährmedium, das aus 4 ccm Bouillon (p_H 7,4) + 1 ccm einer 10%igen Aquosalzlösung

bestand, züchten, wenn auch freilich das Wachstum wegen Fehlens des V-Stoffes nur sehr gering war. Nach der sechsten Passage wurde eine zweite Versuchsreihe abgezweigt, bei der zugleich auf Bouillon + Aquosalz (X-Faktor) + 1%igen Hefeextrakt (V-Faktor), sowie auf 1%ige Hefeextraktbouillon abgeimpft wurde. In der Aquosalz-Hefe-Bouillon gedieh jetzt der Influenzabacillus sehr gut, in der Hefeextraktbouillon dagegen hörte sein Wachstum auf (Fehlen des X-Stoffes). Der letzte Punkt verdient hervorgehoben zu werden, da nach unseren Erfahrungen Hefeextrakt nicht immer X-frei ist. Ganz analog verliefen Versuche mit dem Hundebacillus, der nur X-Stoff braucht; gutes Wachstum durch neun Passagen in Aquosalzbouillon, Aufhören des Wachstums nach Übertragung in Hefeextraktbouillon. Hieraus ergab sich den Autoren eindeutig die X-Wirkung des Aquosalzes. Weitere Versuche erwiesen auch, daß das aktive Eisenoxyd trotz außerodentlich geringer Löslichkeit in Mengen von mindestens 0,1 g pro Kubikzentimeter Bouillon auf die Entwicklung des Bact. lepisepticum und der hämophilen Bacillen von der gleichen Wirksamkeit war wie das Aquosalz. Die Autoren kamen also zu dem Ergebnis, daß anorganische Eisenverbindungen von bekannter chemischer Struktur als X-Faktor wirken können. Da Aquosalz durch Sonnenbestrahlung aus dem inaktiven Ferrocyannatrium entsteht, sahen *Baudisch* und *Welo* diesen Prozeß „als das einfachste Modell einer Bildung eines anorganischen Vitamins durch Sonnenlichtbestrahlung" an und wiesen auf die ähnliche Bedeutung der strahlenden Energie für die Entstehung von antirachitischen Vitaminen hin.

Die Angaben von *Baudisch* und *Webster* wurden von *Bourn* zum Teil bestätigt. Er führte einen Influenzastamm, der in reiner Bouillon nicht gedieh, in Bouillon mit Aquosalzzusatz ohne V-Stoff durch fünf Generationen. Dagegen gelang es nicht, Wachstum in Bouillon mit Zusatz von Mercks magnetischem Eisenoxyd in mehr als zwei Passagen zu erhalten. In synthetischen Medien, die an organischer Substanz nur Asparagin, Ammoniumcitrat und Glycerin enthielten, war sowohl das Aquosalz als auch das magnetische Oxyd unwirksam. *Bourn* schließt daraus, daß Aquosalz nur in Verbindung mit gewissen Abkömmlingen tierischer Gewebe wirksam ist.

Im Widerspruch mit den Befunden von *Webster* und *Baudisch* stehen die ausführlichen Untersuchungen von *Kollath* über „Vitaminsubstanz oder Vitaminwirkung?". Auf alle Einzelheiten dieser ergebnisreichen Arbeit kann hier nicht eingegangen werden; es seien nur die Punkte hervorgehoben, die eine Beziehung zu den Befunden von *Webster* und *Baudisch* aufweisen. *Kollath* untersuchte die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf verschiedene wachstumsfördernde Substanzen. Er fand, daß Ferrocyankalium durch Bestrahlung nach Zusatz von Erythrosin als Sensibilisator so weit aktiviert werden konnte, daß es auf blutfreien Nährböden Influenzabacillenwachstum in Symbiose mit dem

Friedländer-Bacillus, und zwar in Form des *Graßberger*schen „Riesenwachstums" möglich machte. Dies Ergebnis könnte dahin gedeutet werden, daß durch die Bestrahlung aus der inaktiven Eisenverbindung der X-Stoff gebildet worden sei, eine Annahme, die mit den Angaben von *Baudisch* und *Baß* über die Entstehung von Aquosalz aus Ferrocyannatrium durch Belichtung und mit den Befunden von *Webster* und *Baudisch*, die dem Aquosalz X-Wirkung zuschreiben, übereinstimmen würde. Aber nur mit Ammen gelang der Versuch. Wäre tatsächlich der X-Stoff entstanden, so hätte nach Zusatz von V-Stoff Influenzawachstum auch ohne Ammen möglich sein müssen. Das konnte *Kollath* jedoch nicht bestätigen; nach Hinzufügen von V-haltigem Kartoffelwasser blieb ohne Ammen das Wachstum aus. Es darf also bezweifelt werden, ob wirklich durch die Belichtung aus dem an sich unwirksamen Ferrocyankali X-Faktor entstanden war.

Eine eindeutige Nachprüfung der Versuche von *Webster* und *Baudisch* fehlt noch. Diese sind aber für die Pharmakologie des Eisens von großer Bedeutung, insbesondere wegen der Konsequenzen, die die Autoren daraus für die Deutung der besonderen therapeutischen Wirksamkeit eisenhaltiger Heilquellen gezogen haben.

Zur Klärung des Sachverhalts wurden von uns folgende Untersuchungen über die Wirksamkeit von Aquosalz und „aktiven" Eisenoxyden als X-Faktor vorgenommen. Die Versuchsanordnungen von *Webster* und *Baudisch* wurden im wesentlichen beibehalten. Sämtliche Versuche wurden auf flüssigen Medien angestellt. Die Bouillon, die die Grundlage aller Nährmittel war, hatte folgende Zusammensetzung:

1% Liebigs Fleischextrakt,
1% Pepton,
0,3% Kochsalz,
0,2% primäres Natriumphosphat.

Durch Zusatz von Natronlauge wurde sie auf ein p_H von 7,4—7,6 gebracht.

Als V-Stoff wurde nach *Rivers* Hefeextrakt verwandt. Frische Bäckerhefe wurde mit ungefähr 10 Teilen destillierten Wasser versetzt, kurz zum Kochen gebracht, im Eisschrank 2—3 Stunden extrahiert und dann filtriert. Sterilität wurde teils durch Filtration, teils durch 40 Minuten langes Dämpfen bei gewöhnlichem Druck erreicht; der V-Stoff blieb hierbei erhalten. Alle angewandten Eisenverbindungen wurden vor und nach dem Versuch auf ihre Benzidinaktivität in saurem Milieu untersucht.

Zur Fortführung unserer Stämme und zur Kontrolle des Wachstums in den einzelnen Versuchen verwandten wir Levinthalnährmittel. Unsere Levinthalbouillon bestand aus Bouillon von der oben angegebenen Zusammensetzung und 5% menschlichem, defibriniertem Blut. Der

Levinthalagar enthielt 2% Agar und 5% Blut. Beide Nährböden wurden nach den Angaben *Levinthals* dreimal kurz zum Sieden gebracht und dann von den groben Gerinnseln durch Filtration befreit.

Eine sicher X-stoffhaltige, aber V-freie Bouillon stellten wir durch sechsstündiges Dämpfen von Levinthalbouillon bei gewöhnlichem Druck her (Levinthaldampfbouillon). In ihr gedeiht der Hundebacillus sehr gut, während der Influenzabacillus bald abstirbt.

Alle Versuche stellten wir in der Art an, daß die Röhrchen mit den zu untersuchenden Substanzen mit Influenzabacillen resp. Hundebacillen von der Levinthalkultur vermittels einer Platinöse beimpft wurden; auf eine Waschung der Keime mit Kochsalzlösung glaubten wir verzichten zu können, da ja stets mehrere Passagen angelegt wurden, die eine Reinigung überflüssig machen, und nur durch die direkte Übertragung eine Schädigung der Keime ausgeschlossen werden konnte. Die Röhrchen wurden nach der Beschickung 24 Stunden bei 36,5—37° bebrütet und dann je eine Platinöse auf Levinthalagar zur Kontrolle des Wachstums der hämophilen Bacillen und auf gewöhnlichem Agar zur Prüfung auf Verunreinigungen ausgestrichen. Das Ergebnis wurde nach 24- und 48 stündiger Bebrütung der beiden Platten abgelesen.

Zu den Versuchen benutzten wir Influenzastämme, die uns *Levinthal* liebenswürdigerweise überlassen hatte. Der verwandte Hundebacillenstamm war von uns aus dem Präputialsack eines Hundes isoliert worden. Identifiziert wurde er durch seine Ähnlichkeit mit dem Influenzabacillus in der Kolonieform und in der Beschaffenheit des Einzelindividuums, durch sein gutes Wachstum in Levinthaldampfbouillon und Levinthalbouillon (resp. -agar), sowie durch das Ausbleiben des Wachstums in gewöhnlicher Bouillon.

Versuchsreihe 1 (Natriumpentacyanoaquoferroat)[1].

Benutzt wurde Bouillon von der oben beschriebenen Zusammensetzung, Hefeextrakt als V-Spender, 10%ige und 0,1%ige Lösung von Aquosalz in destilliertem Wasser, die durch Filtration keimfrei gemacht war. Von der Influenzakultur wurden neben den notwendigen Kontrollreihen Röhrchen mit Bouillon, Hefe und Aquosalz in verschiedenen Konzentrationen (a—h), von der Hundebacillenkultur Röhrchen mit Bouillon und Aquosalz (i—p) beimpft. Nach 24 stündiger Bebrütung wurde je eine

[1] Die von uns angewandten Eisenverbindungen sind uns freundlicherweise von den Herren *van Eweyk* und *Tennenbaum* überlassen worden. Das Natriumpentacyanoaquoferroat und -ferriat wurde meist nach *K. A. Hofmann* dargestellt [Ann. Chem. **312**, 1 (1900)], das Ferroat teils durch Reduktion des Nitroprussidnatriums mit Hydroxylamin, teils durch Reduktion des Ferriats mit methylalkoholischer Natronlauge, das Ferriat durch Oxydation des Nitroprussidnatrimus mit Brom. Hierüber werden die Autoren an anderer Stelle noch eingehend berichten.

Öse auf Levinthalagar und zur Kontrolle der Reinheit auf gewöhnlichem Agar ausgestrichen. Die Röhrchen wurden alle 24 Stunden weitergeführt. Die Levinthalplatten zeigten nach 24- und 48 stündiger Bebrütung folgendes Ergebnis:

Beimpfung mit Influenzabacillen:	1. Passage	2. Passage	3. Passage	4. Passage	5. Passage	6. Passage
a) 4,0 Bouill. + 0,4 Hefe + 1,0 Aquos. 10%	—	—				
b) 4,0 „ + 0,4 „ + 0,1 „ 10%	—	—				
c) 4,0 „ + 0,4 „ + 1,0 „ 0,1%	+	—	—			
d) 4,0 „ + 0,4 „ + 0,1 „ 0,1%	±	—	—			
e) 4,0 Bouill. + 0,4 Hefe	++	—	—			
f) 4,0 Bouill.	—	—				
g) 4,0 Levithaldampfbouillon + 0,4 Hefe	+++	+++	+++	+++	+++	+++
h) 4,0 Levinthaldampfbouillon	—	—				
Beimpfung mit Hundebazillen:						
i) 4,0 Bouillon + 1,0 Aquosalz 10%	—	—				
k) 4,0 „ + 0,1 „ 10%	—	—				
l) 4,0 „ + 1,0 „ 0,1%	+	±	—	—		
m) 4,0 „ + 0,1 „ 0,1%	—	—				
n) 4,0 „ + 0,4 Hefeextrakt . .	±	—	—			
o) 4,0 Bouillon	—	—				
p) 4,0 Levinthaldampfbouillon . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+++ sehr reichliches Wachstum, ++ gutes Wachstum, + mäßiges Wachstum, ± spärliches Wachstum (einige Kolonien), — kein Wachstum. Alle Maßzahlen bedeuten ccm.

Ergebnis: Die Kontrollen h und p ergeben, daß unsere Levinthaldampfbouillon X-haltig und V-frei ist, aus Reihe g ergibt sich ausreichender V-Gehalt der Hefe, X-Stoff ist weder in der Hefe (n) noch in der Bouillon (o) vorhanden. Aus a—d und i—m geht hervor, daß das verwandte Aquosalz keine X-Wirkung besitzt, ja eher einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum ausübt. In der von *Webster* und *Baudisch* angegebenen Konzentration von 1 ccm 10%iger Aquosalzlösung auf 4 ccm Bouillon ist überhaupt kein Wachstum vorhanden, mit sinkender Konzentration ist Wachstum in der 1.—2. Generation noch zu beobachten, hört aber später auch auf. Der gleiche Versuch wurde sechsmal mit auf verschiedenem Wege hergestelltem Aquosalz und jedesmal frisch hergestelltem Hefeextrakt, der teils durch Filtration, teils durch 40 Minuten langes Dämpfen bei gewöhnlichem Druck keimfrei gemacht worden war, wiederholt und zeigte stets dasselbe Ergebnis.

Versuchreihe 2 (Natriumpentacyanoaquoferriat).

Vom Aquoferriat wurden eine 5%ige und eine 0,1%ige Lösung hergestellt, die durch Filtration keimfrei gemacht wurden. Der Hefeextrakt wurde im Dampftopf 40 Minuten sterilisiert.

Beimpfung mit Influenzabacillen:	1. Passage	2. Passage	3. Passage	4. Passage
4,0 Bouillon + 0,4 Hefe + 2,0 Ferriat 5%	—	—		
4,0 „ + 0,4 „ + 0,2 „ 5%	—	—		
4,0 „ + 0,4 „ + 1,0 „ 0,1%	++	—	—	
4,0 „ + 0,4 „ + 0,1 „ 0,1%	++	—	—	
4,0 Bouillon + 0,4 Hefe	—	—		
4,0 Bouillon	—	—		
4,0 Levinthaldampfbouillon + 0,4 Hefe . . .	+++	+++	+++	+++
4,0 Levinthaldampfbouillon	—	—		

Ergebnis: Wie das Aquosalz ist das Aquoferriat X-unwirksam. Dieser Versuch wurde in der gleichen Weise wiederholt und zeigte dasselbe Resultat.

Versuchsreihe 3 („aktives" Eisenoxyd).

Das angewandte „aktive" Eisenoxyd wurde nach *Baudisch* dargestellt (*Lefort*scher Magnetit bei 330° oxydiert, Fe_2O_3) und 40 Minuten lang trocken bei 140° sterilisiert. Der Hefeextrakt wurde wie in Versuchsreihe 2 behandelt.

Beimpfung mit Influenzabacillen:	1. Passage	2. Passage	3. Passage	4. Passage	5. Passage
4,0 Bouillon + 0,4 Hefe + 10% Oxyd	—	—			
4,0 „ + 0,4 „ + 1% „	+	±	±	—	—
4,0 „ + 0,4 „ + 0,1 % „	+	—	—		
4,0 „ + 0,4 „ + 0,01% „	—	—			
4,0 „ + 0,4 „	++	±	—	—	
4,0 „	+	—	—		
4,0 Levinthaldampfbouillon + 0,4 Hefe . . .	+++	+++	+++	+++	+++
4,0 Levinthaldampfbouillon	++	—	—		
Beimpfung mit Hundebacillen:					
4,0 Bouillon + 10% Oxyd	—	—	—		
4,0 „ + 1% „	++	—	—		
4,0 „ + 0,1% „	+	—	—		
4,0 „ + 0,01% „	±	—	—		
4,0 „ + 0,4 Hefe	+	—	—		
4,0 „	±	—	—		
4,0 Levinthaldampfbouillon	+++	+++	+++	+++	+++

Ergebnis: Das benutzte Präparat besitzt keine X-Wirksamkeit. Der Versuch wurde mit demselben Ergebnis zweimal wiederholt.

Versuchsreihe 4 (andere Eisenoxyde[1]).

Auch mit anderen benzidinaktiven Oxyden konnte kein Wachstum erzielt werden.

[1] Auch über diese Verbindungen werden die Herren *van Eweyk* und *Tennenbaum* an anderer Stelle eingehend berichten.

Die benutzten Oxyde, die unlöslich und hitzeunbeständig sind, wurden folgendermaßen sterilisiert: Sie wurden in Reagensgläser gefüllt und mit Äther übergossen; darauf wurden die Röhrchen evakuiert und zugeschmolzen.

Verwandt wurden folgende Eisenoxyde:

Oxyd I: auf feuchtem Wege aus Ferroferricarbonat durch Oxydation mit Persulfat hergestellt; rotbraun, magnetisch.

Oxyd II: auf feuchtem Wege aus Magnetit durch Oxydation mit Persulfat hergestellt; rotbraun, magnetisch.

Oxyd III: auf feuchtem Wege aus Ferroferricarbonat durch Oxydation mittels H_2O_2 hergestellt; ockerfarben, wasserhaltig, nicht magnetisch.

Beimpfung mit Hundebacillen:	1. Passage	2. Passage	3. Passage	4. Passage
4,0 Bouillon + 10% Oxyd I	—	—		
4,0 „ + 10% „ II	—	—		
4,0 „ + 10% „ III	—	—		
4,0 „	—	—		
4,0 Levinthaldampfbouillon	+++	+++	+++	+++

Ergebnis: Die in diesem Versuche angewandten Oxyde zeigen ebenfalls keine X-Wirkung. Der Versuch wurde mit dem gleichen Ergebnis zweimal wiederholt.

Versuchsreihe 5 (Ferroferricarbonat).

Das verwandte Ferroferricarbonat *(van Eweyk* und *Tennenbaum)* wurde in derselben Weise wie die Oxyde im vorigen Versuch sterilisiert.

Beimpfung mit Influenzabacillen:	1. Passage	2. Passage	3. Passage	4. Passage
4,0 Bouillon + 0,4 Hefe + 0,5 g Carbonat .	—	—		
4,0 „ + 0,4 „	—	—		
4,0 „	—	—		
4,0 Levinthaldampfbouillon + 0,4 Hefe . .	+++	+++	+++	+++
4,0 Levinthaldampfbouillon	—	—		

Ergebnis: Ferroferricarbonat besitzt keine X-Wirksamkeit. Der Versuch wurde mit demselben Ergebnis viermal angestellt.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß es uns niemals gelungen ist, in der Kultur von Influenza- und Hundebacillen den X-Stoff durch „aktive" Eisensalze zu ersetzen[1].

[1] Nach mündlicher Mitteilung von Herrn *Baudisch* konnten die Versuche auch von *Webster* in letzter Zeit nicht mehr reproduziert werden. Wir glauben, daß bei den früheren positiven Versuchen von *Webster* und *Baudisch* noch andere unbekannte und deshalb nicht reproduzierbare Bedingungen eine Rolle gespielt haben.

Literaturverzeichnis.

Agulhon, H. et *R. Legroux:* C. r. Acad. Sci. Paris **167** (1918). — *Baudisch, Oskar* und *Lars A. Welo:* Naturwiss. **13**, H. 36. (1925). — *Bourn, I. M.:* J. inf. Dis. **41** (1927). — *Davis, D. I.:* J. inf. Dis. **21** (1917); **23** (1918); **29** (1921). — *Fildes, P.:* Brit. J. exper. Path. **2** (1921); **3** (1922); **4** (1923). — *Gehlen, W.:* Untersuchungen über die wachstumsfördernden Stoffe der *Koch-Weeks-* und Influenzabakterien. Inaug.-Diss. Erlangen 1923. — *Graßberger, Roland:* Z. Hyg. **25** (1897); Wien. klin. Wschr. **1897**; Zbl. Bakter. I Orig. **23** (1898). — *Knorr, Maximilian:* Erg. **6** (1924) und **7** (1925); Zbl. Bakter. I Orig. **92** (1924); **94** (1925); **95** (1925); Dtsch. med. Wschr. **1925**. — *Knorr, Maximilian* und *W. Gehlen:* Arch. Hyg. **94** (1924). — *Kollath, W.:* Zbl. Bakter. I Orig. **93** (1924); **95** (1925); **100** (1926); Klin. Wschr. **1926**, 930; **1927**, 13. — *Kollath, W.* und *Leichtentritt:* Zbl. Bakter. I Orig. **97**, 65; **97**, 119. — *Kopp, H.:* Zbl. Bakter. I Orig. **105** (1927). — *Legroux, R.* et *I. Mesnard:* C. r. Acad. Sci. Paris **170** (1920). — *Levinthal, Walter:* Z. Hyg. **86** (1918); Zbl. Bakter. I Orig. **89** (1922). — *Meunier, H.:* C. r. Soc. Biol. Paris **1898**. — *Neisser, M.:* Dtsch. med. Wschr. **1903**. — *Ohlsen, Otto:* Zbl. Bakter. I Orig. **84** (1920) und **85**. — *Petran, Gottfried:* Zbl. Bakter. I Orig. **103** (1927). — *Pfeiffer, R.:* Z. Hyg. **13** (1893). — *Rivers, T. M.:* J. Bacter. **1** (1916); **7** (1922); Bull. Hopkins Hosp. **31** (1920). — *Rivers, T. M.* and *Leuschner:* Bull. Hopkins Hosp. **32** (1921). — *Rivers, T. M.* and *A. K. Poole:* Bull. Hopkins Hosp. **32** (1921). — *Thötta, Th.:* J. of exper. Med. **33** (1921) und **40** (1924). — *Thjötta, Th.* und *T. Avery:* J. of exper. Med. **34** (1921). — *Webster, Leslie T.* and *Oskar Baudisch:* J. of exper. Med. **41** (1925). — *Webster, Leslie T.* and *Oskar Baudisch:* J. of exper. Med. **42** (1925).

Lebenslauf.

Ich, *Harry Fischgold,* wurde am 11. Mai 1903 als Sohn des Kaufmanns Chaim Fischgold in Berlin geboren. Ich besuchte das hiesige Sophien-Gymnasium, das ich Ostern 1922 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Darauf studierte ich an der Berliner Universität und bestand hier Michaelis 1925 das Physikum und Ostern 1928 das medizinische Staatsexamen.